

TAMERAN

-1 OCT 2005

SELESAI



LAPORAN PENELITIAN
DIK RUTIN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2002

**PENGARUH PAPARAN BENZOPIRIN TERHADAP PENURUNAN
SISTEM KETAHANAN IMUNOLOGIK MUKOSA
LAMBUNG MENCIT (*Mus Musculus. L*)**

Peneliti:

Drs. SAIKHU AKHMAD HUSEN, M.Kes.
Dra. DWI WINARNI, M.Si.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana DIK Rutin Universitas Airlangga Tahun 2002
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4878/JO3/PG/2002
Tanggal 7 Juni 2002
Nomor Urut: 23

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember 2002

3000497033141



LAPORAN PENELITIAN
DIK RUTIN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2002

KKE
KK
571.961
Hus
p

PENGARUH PAPARAN BENZOPIRIN TERHADAP PENURUNAN SISTEM KETAHANAN IMUNOLOGIK MUKOSA LAMBUNG MENCIT (*Mus Musculus. L*)

Peneliti:

Drs. SAIKHU AKHMAD HUSEN, M.Kes.

Dra. DWI WINARNI, M.Si.



3000197033141

019703141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana DIK Rutin Universitas Airlangga Tahun 2002

SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4878/JO3/PG/2002

Tanggal 7 Juni 2002

Nomor Urut: 23

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember 2002



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
 IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN

- | | | |
|--|---------------------------------------|--|
| 1. Puslit Pembangunan Regional | 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720) | 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719) |
| 2. Puslit Obat Tradisional | 6. Puslit/Studi Wanita (5995722) | 10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584) | 7. Puslit Olah Raga | |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718) | 8. Puslit Bioenergi | |

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
 E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN
 LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN**

1. Judul Penelitian : Pengaruh Paparan Benzopirin Terhadap Penurunan Sistem Ketahanan Immunologik Mukosa Lambung Mencit (*Mus Musculus, L*)
 - a. Macam Penelitian : Fundamental Terapan Pengembangan
 - b. Kategori Penelitian : I II III
2. Kepala Poyek Penelitian
 - a. Nama lengkap dan Gelar : Drs. Saikhu Akhmad Husen, M.Kes.
 - b. Jenis kelamin : Laki-laki
 - c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata /Gol. III c/131836620
 - d. Jabatan Sekarang : Lektor Muda
 - e. Fakultas/Puslit/Jurusan : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
 - f. Univ/Ins./Akademi : Universitas Airlangga
 - g. Bidang Ilmu yang diteliti : Reproduksi
3. Jumlah Tim Peneliti : 2 (dua) orang
4. Lokasi Penelitian : Surabaya
5. Kerjasama dengan Instansi lain
 - a. Nama Instansi :
 - b. A l a m a t :
6. Jangka waktu penelitian : 6 (enam) bulan
7. Biaya yang diperlukan : Rp.4.000.000,00 (Empat juta rupiah)
8. Seminar Hasil Penelitian
 - a. Dilaksanakan Tanggal : 31 Januari 2003
 - b. Hasil Penelitian : () Baik Sekali (V) B a i k
() S e d a n g () K u r a n g

Surabaya, 31 Januari 2003



Mengetahui/Mengesahkan
 a.n. Raktor
 Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.
 NIP 130 701 125



RINGKASAN

PENGARUH PAPARAN BENZOPIRIN TERHADAP PENURUNAN SISTEM KETAHANAN IMUNOLOGIK MUKOSA LAMBUNG MENCIT (*Mus musculus*, L.) (Saikhu Akhmad Husen, Dwi Winarni, 2003, 33 halaman)

Kecenderungan budaya masyarakat Asia timur dan Asia tenggara, terutama masyarakat Indonesia untuk mengkonsumsi makanan yang diasap, dibakar atau dipanggang seperti sate, ikan bakar maupun ayam panggang sampai saat ini masih sangat tinggi. Hal ini perlu diwaspadai karena makanan tersebut, terutama yang dibakar maupun yang dipanggang terlalu kering diindikasikan mengandung senyawa benzopirin (Marhendra, 1995). Senyawa benzopirin yang masuk ke dalam tubuh bersifat karsinogenik, imunotoksik dan immunosupresif yang berkemampuan menekan sistem imunitas tubuh (Hengartner, 1996) dan dapat merangsang terbentuknya sel kanker (Husen, 2000). Sampai saat ini belum diketahui mekanisme penurunan sistem ketahanan imunologik yang terjadi pada mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin yang dapat menyebabkan terbentuknya kanker lambung. Penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan apakah paparan benzopirin dengan dosis, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang berbeda berpengaruh terhadap penurunan jumlah limfosit, makrofag dan sel plasma aktif pada mukosa lambung mencit ?. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan terjadinya penurunan jumlah limfosit, makrofag dan sel plasma aktif pada mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin dengan dosis, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang berbeda. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai informasi ilmiah, dalam mengungkap terjadinya penurunan sistem ketahanan imunologik pada mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental sesungguhnya, yang dilakukan di Laboratorium Biologi Reproduksi Jurusan Biologi FMIPA Unair, dengan menggunakan rancangan penelitian faktorial $3 \times 4 \times 3$ (Sarmanu, 1993).

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa, akhirnya penulis berhasil menyelesaikan penelitian dan penyusunan laporan akhir penelitian ini dengan baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan benzopirin terhadap penurunan sistem ketahanan imunologik mukosa lambung mencit, sebagai sumbang saran ilmiah kepada masyarakat agar tetap waspada terhadap pengaruh beberapa bahan berbahaya yang ada di lingkungan yang dapat membahayakan kesehatan manusia.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor dan Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Dekan FMIPA dan Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unair atas kesempatan yang diberikan kepada penulis, dalam melakukan penelitian dan penyusunan laporan penelitian

Laporan penelitian ini masih jauh dari sempurna, akhirnya penulis mengharapkan kritik dan saran dari sejawat sekalian demi penyempurnaan laporan akhir penelitian ini.

Surabaya, 15 Januari 2003

Penulis

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Rerata Jumlah limfosit mukosa lambung mencit yang diberi paparan benzopirin dosis 0 , 10 dan 20 mg/kg BB.....	17
Tabel 4.2. Rerata Jumlah limfosit mukosa lambung mencit yang diberi paparan benzopirin 1,2, 4 dan 8 minggu	17
Tabel 4.3. Rerata Jumlah limfosit mukosa lambung mencit dengan Kombinasi dosis dan waktu paparan	18
Tabel 4.4. Rangkuman analisis varians dua arah rerata jumlah limfosit Mukosa lambung yang diberi paparan benzopirin	21
Tabel 4.5. Rerata Jumlah makrofag mukosa lambung mencit yang diberi paparan benzopirin dosis 0 , 10 dan 20 mg/kg BB.....	22
Tabel 4.6. Rerata Jumlah makrofag mukosa lambung mencit yang diberi paparan benzopirin 1,2 4, dan 8 minggu.....	22
Tabel 4.7. Rerata Jumlah makrofag mukosa lambung mencit kombinasi Dosis dan waktu paparan benzopirin	23
Tabel 4.8. Rangkuman analisis varians dua arah rerata jumlah makrofag Mukosa lambung yang diberi paparan benzopirin	25
Tabel 4.9. Rerata Jumlah sel plasma aktif mukosa lambung mencit yang diberi paparan benzopirin dosis 0 , 10 dan 20 mg/kg BB.....	26
Tabel 4.10. Rerata Jumlah sel plasma aktif mukosa lambung mencit yang diberi paparan benzopirin 1,2,4 dan 8 minggu:.....	27
Tabel 4.11. Rerata Jumlah sel plisma aktif mukosa lambung mencit Kombinasi dosis dan waktu paparan benzopirin	27
Tabel 4.12 Rangkuman analisis varians dua arah rerata jumlah sel plasma Aktif mukosa lambung yang diberi paparan benzopirin	29

dilengkapi dengan sekret /getah lambung, untuk mengatasi pengaruh paparan benzopirin yang merugikan yang masuk bersama makanan, mukosa lambung juga dilengkapi dengan kemampuan berupa sistem imun mukosal, yang berperan memberikan pertahanan lokal pada mukosa lambung. Sistem imun khusus ini terdiri dari lapisan mukous yang terdiri atas sistem imun spesifik dan sistem imun nonspesifik, serta *mucosal immune surveillance* (Putra,1997).

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Dean (1989) dalam Marhendra, (1995), pemaparan beberapa jenis senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon, termasuk benzopirin dilaporkan dapat menekan pembentukan antibodi pada mukosa bronkus. Benzopirin bereaksi dengan cara menghalangi produk interleukin-1 (IL-1) yang menyebabkan terjadinya kelainan induksi kimia pada fungsi sel. Menurut Stutman (1979) dalam Putra, (1997a), pemberian senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon, seperti 3- *methylcholantrene* atau 7,12 *dimethylbenzanthracene* (DMBA), pada tikus dapat mengganggu *immune surveillance*, karena bahan tersebut dapat menekan respons imun seluler. Bahan DMBA dilaporkan dapat menghambat aktifitas limfosit T *helper* dan pertumbuhan limfosit B. Di samping itu paparan senyawa benzopirin juga dilaporkan dapat meningkatkan hiperplasia atipik sel myoepitel kelenjar payudara mencit (Husen,1998), serta menurunkan jumlah limfosit dan sel plasma aktif pada mukosa ileum mencit (Husen,2000).

Sebagaimana telah diketahui Jika sistem ketahanan imunologik, baik yang seluler maupun yang humoral mengalami penurunan jumlah maupun fungsi, karena induksi senyawa kimia yang bersifat imunotoksik dan immunosupresif yang masuk melalui saluran pencernaan makanan, maka diasumsikan senyawa ini dapat

1.3 HIPOTESIS PENELITIAN

Paparan benzopirin dengan dosis, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang berbeda dapat menurunkan jumlah sel imunokompeten pada mukosa lambung mencit.

1.4. Tujuan penelitian

1. Membuktikan terjadinya penurunan jumlah limfosit pada mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin dengan dosis, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang berbeda.
2. Membuktikan terjadinya penurunan jumlah makrofag pada mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin dengan dosis, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang berbeda.
3. Membuktikan terjadinya penurunan jumlah sel plasma aktif pada mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin dengan dosis, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang berbeda.

1.5. Manfaat Penelitian

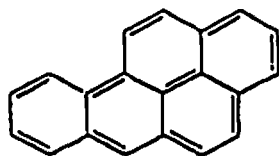
Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai informasi ilmiah, dalam mengungkap terjadinya penurunan sistem ketahanan imunologik pada mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin. Informasi ini dapat digunakan sebagai upaya pencegahan paparan benzopirin lebih lanjut, untuk menghindari terjadinya peningkatan karsinogenesis dan terjadinya kanker lambung, berdasarkan paradigma patobiologik yang berkonsep imunopatobiologik, dan pemeriksaan variabel secara morfofungsi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Karakteristik Benzopirin

Benzopirin atau 1,2 benzapirena disingkat B[a]P, adalah senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon (PAH) yang banyak terdapat dalam asap rokok, gas buangan kendaraan bermotor, asap dari proses pembakaran bahan bakar organik dan makanan yang diasap atau dipanggang. Pada mulanya senyawa benzopirin ini dijumpai pada tar dari arang, yang diduga terjadi karena pembakaran yang tidak sempurna dari bahan bakar fosil, seperti minyak bumi, batubara dan sebagainya (Sugianto, 1992). Senyawa benzopirin berupa kristal monoklin atau ortorombik (gambar 1), berwarna kekuningan, berbentuk jarum, mempunyai massa molekul (M_r) = 252,3 dengan titik lebur $179 - 179,3^\circ \text{C}$, larut dalam benzena, toluena, xylene, alkohol, dan metanol. Praktis tidak larut dalam air (Pudjiastuti, 1998).



Gambar 2.1. Benzo(a)pyrena (Casarett, 1986)

Senyawa benzopirin merupakan salah satu senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon, yang saat ini paling banyak diteliti karena bersifat imunotoksik, immunosupresif, dan karsinogenik. Terjadinya senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon ini diduga karena terjadinya pembakaran yang tidak sempurna dari bahan bakar fosil atau bahan organik, melalui proses polimerisasi radikal bebas karena reaksi pirolisis (Sugianto, 1992).

Senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon merupakan turunan benzena, dengan atom karbon yang digunakan bersama di antara cincin benzena. Sifat karsinogenik senyawa ini tergantung pada jumlah cincin benzena yang terdapat pada molekul tersebut. Substansi yang mempunyai kurang dari 4 cincin benzena tidak bersifat karsinogenik, substansi dengan 4 cincin benzena bersifat karsinogenik, sedangkan substansi yang mempunyai 5 atau lebih cincin benzena, umumnya sangat karsinogenik dan potensial sebagai penyebab kanker (Klein, 1982; Casareit, 1986).

2.2. Benzopirin Senyawa Karsinogenik

Bahan kimia yang dapat menyebabkan abnormalitas sel dan dapat menginduksi terbentuknya kanker, disebut sebagai bahan karsinogenik. Beberapa substansi kimia pada tar dari arang yang dapat menginduksi terbentuknya kanker, diketahui sebagai senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon (Hardin,1992).Salah satu senyawa polisiklik aromatis hidrokarbon yang bersifat karsinogenik adalah benzopirin (Gambar 1). Benzopirin sebenarnya merupakan suatu senyawa prekarsinogenik, yaitu suatu bahan yang akan menjadi karsinogenik apabila membentuk senyawa *proximate carcinogen* dan *ultimate carcinogen* melalui aktivitas enzimatis (Hardin, 1992; Casarett, 1986). *Proximate carcinogen* adalah metabolit

intermediet, sedangkan *ultimate carcinogen* merupakan metabolit akhir yang bersifat karsinogenik. Senyawa benzopirin setelah berada di dalam sel, pertama kali dimetabolisasi oleh *mixed function oxidase* (MFO) yang mengandung berbagai bentuk sitokrom P 450 yang berlokasi pada membran retikulum endoplasmik, dengan hasil akhir berupa senyawa nontoksik dan senyawa karsinogenik. Reaksi detoksifikasi yang menghasilkan senyawa non toksik berasal dari perubahan senyawa epoksi menjadi senyawa fenol melalui reaksi enzimatis, berkonjugasi dengan glutation. Senyawa fenol selanjutnya bereaksi dengan asam difosfoglukuronat atau sulfat. Reaksi lain yang menghasilkan senyawa karsinogen adalah reaksi yang mengubah senyawa epoksi menjadi dihidroksil atas peran enzim epoksi hidrolase menjadi benzopirena 7,8 diol. Selanjutnya senyawa tersebut dimetabolisir menjadi *ultimate carcinogen*, yaitu benzopirena 7-8 dihidrodiol 9,10 epoksi, yang merupakan suatu senyawa yang sangat reaktif (Weiss, 1993).

Menurut Kumar (1997), senyawa *ultimate carcinogen* dapat membentuk ikatan dengan DNA, RNA dan protein dari sel sasaran. Aktivitas ini dilakukan dengan cara mengikat guanin yang merupakan basa DNA, sehingga dapat menyebabkan terjadinya kesalahan dalam memilih pasangan basa pada waktu replikasi. Ikatan kovalen pereaksi elektrofilik pada DNA dapat menimbulkan terjadinya gangguan fungsi sel, karena terjadi kesalahan replikasi DNA, hibridisasi sel dan perubahan dalam kromosom.

2.3 Tinjauan Tentang Sistem Imun

Sistim imun merupakan sistim yang berperan ganda dalam usaha menjaga keseimbangan dalam tubuh. Bertugas mengatur keadaan keseimbangan dengan

menggunakan komponennya yang beredar pada seluruh tubuh, agar supaya dapat mencapai sasaran yang jauh dari pusatnya (Subowo, 1993). Menurut Bellanti (1993), konsep tentang imunitas adalah suatu mekanisme yang bersifat fisiologik, melengkapi binatang atau manusia, dengan suatu kemampuan untuk mengenal suatu zat sebagai asing terhadap dirinya, yang selanjutnya tubuh akan mengadakan tindakan dalam bentuk netralisasi, melenyapkan, atau memasukkan dalam proses metabolisme untuk memusnahkannya tanpa menimbulkan pengaruh, baik berupa reaksi fisiologik maupun patologik (Abbas, 1994). Ada atau tidak adanya tindakan oleh tubuh, terhadap suatu bahan yang masuk disebut respons imun, yaitu kemampuan pengenalan apakah bahan itu asing atau tidak. Walaupun bahan itu berasal dari tubuhnya sendiri, namun apabila dikenal asing, tubuh akan mengambil tindakan, tetapi sebaliknya walaupun bahan tersebut berasal dari luar, dapat dikenal sebagai bahan yang tidak asing. (Subowo, 1993; Barata Widjaya, 1996).

Sel yang terlibat dalam sistim imun, berasal dari sel induk hemopoitik (*hemopoetic stem cell*), yang berasal dari *yolk sac* embrio dan mengalami migrasi pada sumsum tulang. Selanjutnya berdeferensiasi pada sumsum tulang, limfa, dan kelenjar getah bening, menjadi berbagai komponen sel limfoid (Soeparto, 1997). Beberapa sel diproses lagi melalui timus menjadi sel T, sedang yang lain memasuki peredaran darah, berdeferensiasi menjadi sel B dan sel mieloid, kemudian membentuk monosit, mastosit dan sel polimorfonuklear. Berbagai sel tersebut masuk ke berbagai jaringan, yang berperan dalam sistim imunitas tubuh (Barata Widjaya, 1996 ; Soeparto, 1997).

Sistim imun dapat dibedakan menjadi dua, yaitu sistim imun alamiah atau non spesifik (*natural / innate*) dan sistim imun didapat atau spesifik (*adaptive /*

acquired). Sistim imun non spesifik bersifat alami, merupakan ketahanan imunologik yang pertama muncul, pada infeksi mikroba ataupun makromolekul yang tidak membedakan jenis penyebab terjadinya infeksi. Sedangkan sistim imun spesifik, merupakan mekanisme pertahanan tubuh, yang dipacu oleh adanya paparan suatu zat asing tertentu. Sistim imun spesifik lebih efektif dan lebih terfokus pada suatu paparan antigen tertentu (Abbas, 1994).

Sistim imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme, oleh karena itu dapat memberikan respons langsung terhadap antigen. Sedangkan sistim imun spesifik, membutuhkan waktu tertentu untuk mengenal antigen terlebih dahulu, sebelum dapat memberikan responsnya (Barata Widjaya,1996; Bellanti, 1993).

Berbagai komponen sistim imun non spesifik terdiri atas :

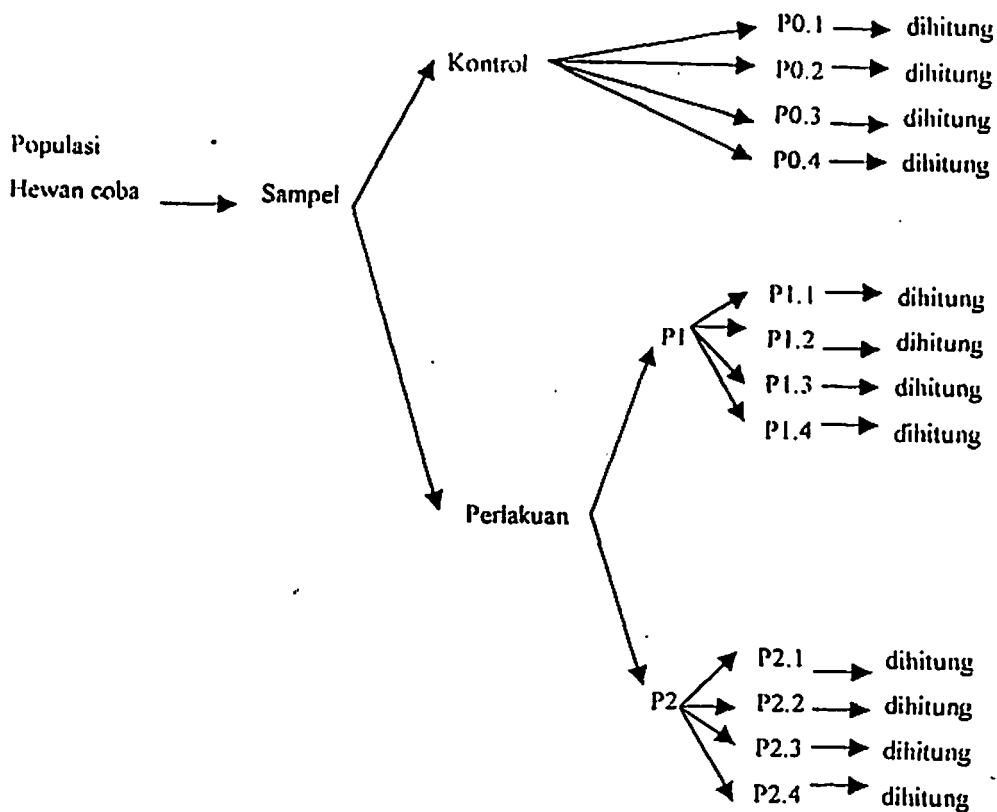
- a. Pertahanan fisik dan mekanik terhadap infeksi, yaitu dengan menghambat pengikatan atau penetrasi oleh agen infeksi. Pertahanan tersebut terdapat pada kulit yang utuh, selaput lendir, silia saluran nafas, lapisan pembungkus sel yang membawa mikroba dan agen infeksi pada ludah, keringat, urin, dan berbagai cairan tubuh lainnya.
- b. Pertahanan biokimia (bahan larut), diwujudkan dalam bentuk pengaturan pH dari keringat dan sekresi kelenjar sebaceous. Berbagai asam lemak dan enzim yang mempunyai efek antimikrobial, akan mengurangi kemungkinan infeksi melalui kulit. Bahan yang disekresi mukosa saluran nafas dan telinga, berperan pula dalam pertahanan tubuh secara biokimiawi. Lisosim dalam keringat, ludah, air mata, dan air susu, melindungi tubuh terhadap berbagai kuman gram positif.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental sesungguhnya (*True experimental*), yang dilakukan di laboratorium, dengan menggunakan rancangan penelitian faktorial $3 \times 4 \times 3$ (Sarmanu, 1993). Secara diagramatis rancangan penelitian dapat digambarkan alurnya sebagai berikut.



Gambar 3.1. Skema rancangan penelitian



3.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan strain BALB/C berusia 8 minggu, dengan berat badan awal antara 20 - 25 gr. Besar sampel minimal yang dipergunakan untuk pengujian hipotesis penelitian, ditentukan dengan rumus Higgins dan klinbaum (1985), dan Pudjiraharjo (1996).

3.3 Variabel Penelitian

Variabel Bebas : Dosis, waktu serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan larutan benzopirin

Variabel terikat : Jumlah limfosit, makrofag dan sel plasma aktif pada mukosa lambung mencit.

3.4. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Benzo(a) pyrene dan minyak olivarum buatan SIGMA. Garam fisiologis (NaCl 0,9%), buffer formalin 10%, etanol 96% dan etanol absolut, xylol, parafin, aquadest, entellan, PBS, larutan diastase 0,1%, periodic acid 0,5%, schiff, H Cl pekat, amonium hidroksida 28%, gliserin, albumin. Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : kandang mencit yang terbuat dari bak plastik berisi sekam, tempat makan dan botol minum, spet dengan jarum yang ditumpulkan, seperangkat alat bedah, botol jam, mikrotom putar dan perlengkapannya, water bath, gelas obyek dan gelas penutup, oven, termometer, bak plastik, kertas label, mikroskop sinar binokuler, *grateculae*, *counter*, pensil dan tabel ompong.

3.5 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

1. Dari populasi hewan coba sebanyak 36 ekor mencit jantan strain BALB/C, diadaptasikan dengan kondisi lingkungan selama dua minggu, dibagi secara random menjadi tiga kelompok berdasarkan dosis paparan benzopirin yang diberikan, yaitu kelompok kontrol (0 mg /kg BB) perlakuan 1 (10 mg/kg BB), dan perlakuan 2 (20 mg/kg BB), selanjutnya tiap kelompok dibagi lagi menjadi 4 sub kelompok berdasarkan waktu paparan larutan benzopirin. Pembagian kelompok dan sub kelompok diatur sebagai berikut :

Kelompok P0.1 : Kelompok kontrol 1, dimana 3 ekor mencit masing-masing diberi 0,2 ml minyak olivarium per oral dua kali dalam seminggu selama 1 minggu

Kelompok P0.2: Kelompok kontrol 2, dimana 3 ekor mencit masing-masing diberi 0,2 ml minyak olivarium per oral dua kali dalam seminggu selama 2 minggu

Kelompok P0.3 : Kelompok kontrol 3, dimana 3 ekor mencit masing-masing diberi 0,2 ml minyak olivarium per oral dua kali dalam seminggu selama 4 minggu

Kelompok P0.4: Kelompok kontrol 4, dimana 3 ekor mencit masing-masing diberi 0,2 ml minyak olivarium per oral dua kali dalam seminggu selama 8 minggu.

Kelompok P1.1 : Kelompok perlakuan 1.1, dimana 3 ekor mencit masing-masing diberi 0, 2 ml larutan benzopirin per oral 10 mg/kg berat badan 2 kali dalam seminggu selama 1 minggu.

3. Perlakuan terhadap mencit berupa paparan larutan benzopirin per oral sesuai dengan dosis dan waktu paparan yang telah ditentukan.
4. Pada akhir minggu yang telah ditentukan, masing-masing mencit dikorbankan dengan metode *single fixatif*, kemudian mencit dibedah dan diambil organ lambung untuk dipersiapkan sebagai sediaan dan diwarnai dengan metode pewarnaan yang telah ditentukan.

3.6 Prosedur Pembuatan Sediaan Mukosa Lambung dan Pengumpulan Data

Mencit yang telah dikorbankan diambil organ lambung. Panjang irisan kurang lebih 1 Cm. Jaringan segar yang didapat difiksasi dalam buffer formalin 10%, selanjutnya diproses untuk dibuat sediaan dengan metode parafin. Untuk menampilkan variabel limfosit dan makrofag dilakukan pewarnaan dengan metode pewarnaan HE (haematoksilin eosin). Sedangkan untuk menampilkan variabel sel plasma aktif dilakukan pewarnaan dengan metode pewarnaan diastase periodic acid schiff (d PAS). Pengumpulan data dilakukan dengan menggunakan *grateculae*.

3.7 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh dosis paparan benzopirin, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan benzopirin terhadap penurunan sistem ketahanan imunologik mukosa lambung mencit, dilakukan dianalisis data dengan uji anava (Analisis varians) faktorial dua arah (Sarmanu,1993,). Apabila perlakuan dosis, waktu serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan berpengaruh nyata (signifikans), maka analisis dilanjutkan dengan uji LSD, untuk mengetahui perbedaan rerata antar perlakuan. Hasil uji LSD bermakna bila diperoleh harga $p < 0,05$ (Sarmanu,1999; Sudjana, 1995).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

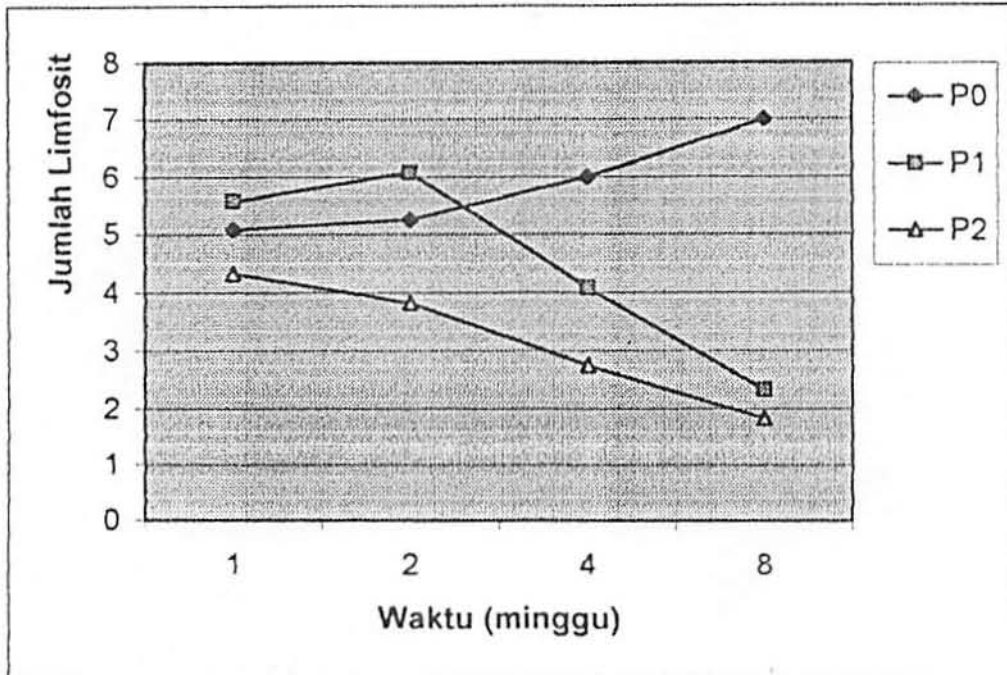
Pemeriksaan terhadap variabel limfosit, makrofag dan sel plasma aktif pada mukosa lambung mencit, dilakukan dengan cara membaca dan menghitung unit analisis pada mikroskop sinar yang meliputi jumlah limfosit, makrofag dan sel plasma aktif per lapang pandang pada sediaan histopatologik sesuai dengan pewarnaan yang dilakukan. Setiap satu sampel penelitian dilakukan pembacaan dan penghitungan unit analisis sebanyak 4 kali lapang pandang, sesuai dengan arah jarum jam pada jam 3, jam 6, jam 9 dan jam 12, dengan menggunakan *grateculae* dan perbesaran 400 x.

4.1.1. Data Jumlah Limfosit

Hasil pembacaan dan penghitungan terhadap jumlah limfosit pada mukosa lambung mencit, disusun dan disajikan pada lampiran 1. Sedangkan rerata hasil pembacaan dan penghitungannya disajikan pada tabel 4.1, 4.2 dan 4.3, serta gambar 4.1. dengan klasifikasi A = waktu paparan (A1 = 1 minggu, A2 = 2 minggu, A3 = 4 minggu, A4 = 8 minggu). B = dosis paparan (B1 = 0 mg/kg BB, B2 = 10 mg/kg BB, B3 = 20 mg/kg BB), serta AB adalah kombinasi antara dosis dan waktu paparan.

Tabel 4.3. Rerata jumlah limfosit mukosa lambung mencit dengan kombinasi dosis dan waktu paparan benzopirin

Kombinasi dosis dan Waktu paparan	Rerata jumlah limfosit	Simpangan baku
A1B1	5,083	0,629
A1B2	5,583	0,144
A1B3	4,333	1,041
A2B1	5,250	0,433
A2B2	6,083	0,144
A2B3	3,833	0,521
A3B1	6,000	0,500
A3B2	4,083	0,144
A3B3	2,750	0,901
A4B1	7,000	0,500
A4B2	2,333	0,288
A4B3	1,833	0,144
Total	4,514	1,612



Gambar 4.1. Grafik rerata jumlah limfosit mukosa lambung mencit setelah paparan benzopirin dengan :
 Dosis paparan : P0 = kontrol, P1 = 10 mg/kg, P2 = 20 mg/kg.
 Waktu paparan : 1 minggu ; 2 minggu ; 4 minggu dan 8 minggu

Dari tabel 4.1, 4.2 dan 4.3 serta gambar 4.1 terlihat bahwa rerata jumlah limfosit pada paparan benzopirin dengan dosis yang berbeda, menunjukkan rerata jumlah limfosit yang berbeda secara bermakna antara kelompok kontrol, perlakuan 10 mg/kg BB dan 20 mg/kgBB, dengan $P < 0,05$. Untuk perlakuan dengan waktu paparan yang berbeda, tampak bahwa antara waktu paparan 1, 2 dan 4 minggu, tidak berbeda secara bermakna $P > 0,05$. Sedangkan untuk waktu paparan 1, 2, 4 dengan 8 minggu, terdapat perbedaan yang bermakna, di mana $P < 0,05$. Dari tabel 5.3 tersebut di atas, terlihat bahwa rerata jumlah limfosit

$P < 0.05$ (Lampiran 4). Dari gambar 4.1 terlihat bahwa rerata jumlah limfosit kelompok kontrol (0 mg/kg BB) mengalami peningkatan jumlah seiring dengan bertambahnya usia mencit dari $(5,083 \pm 0,629)$ pada usia 2 bulan, menjadi $(7,000 \pm 0,144)$ pada usia 4 bulan. Sedangkan untuk rerata jumlah limfosit pada kelompok perlakuan I (10 mg/kg BB) terlihat bahwa jumlah limfosit mengalami peningkatan untuk waktu paparan 1 dan 2 minggu, di mana rerata jumlah limfosit melebihi rerata jumlah kontrolnya, sedangkan untuk waktu paparan 4 dan 8 minggu jumlah limfosit mengalami penurunan. Untuk kelompok perlakuan II (20 mg/kg) terlihat bahwa jumlah limfosit pada waktu paparan 1, 2, 4 dan 8 minggu mengalami penurunan jika dibanding dengan kontrolnya. Dengan demikian dapat diketahui bahwa semakin besar dosis dan waktu paparan benzopirin yang diberikan semakin menurun jumlah limfosit yang terbaca seperti terlihat pada gambar 4.1. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa benzopirin merupakan imunogen pada dosis dan waktu paparan yang rendah (A2B2), sedangkan untuk dosis dan waktu paparan yang meningkat (A3B3 dan A4B3), benzopirin akan bersifat immunosupresif terhadap rerata jumlah limfosit yang terbaca.

Selanjutnya untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna, dari perlakuan dosis , waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang diberikan, dilakukan analisis varians dua arah (Sarmanu, 1999), yang dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil Anava dua arah dapat dilihat pada tabel 4.4.



Tabel 4.4. Rangkuman analisis varians dua arah terhadap rerata jumlah limfosit mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin

Sumber variasi	DF	SS	MS	F	P
Dosis	2	42,003	21,002	73,763	0,001
Waktu	3	10,910	3,637	12,772	0,001
Interaksi	6	32,872	5,479	19,242	0,000
Dalam	24	6,833	0,285		
Total	35	92,618	2,646		

Dari hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa paparan benzopirin dengan dosis dan waktu paparan yang berbeda serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan menghasilkan perbedaan secara signifikans, pada $P < 0,05$. Dengan demikian dapat diinformasikan bahwa semakin besar dosis dan semakin lama waktu paparan benzopirin yang diberikan, semakin menurun jumlah limfosit yang terbaca dan terhitung pada mukosa lambung mencit per lapang pandang.

4.1.2. Data Jumlah makrofag

Hasil pembacaan dan penghitungan jumlah makrofag pada mukosa lambung mencit, disusun dan disajikan pada lampiran 2. Sedangkan rerata hasil pembacaan dan penghitungannya disajikan pada tabel 4.5, 4.6, 4.7, serta gambar 4.2.

Tabel 4.5. Rerata jumlah makrofag mukosa lambung mencit yang diberi paparan benzopirin dosis 0, 10 dan 20 mg/kg berat badan

	Dosis benzopirin (mg/kg BB)		
	0	10	20
Rerata jumlah makrofag	2,917 ^a	2,687 ^a	1,854 ^b
Simpangan baku	0,835	1,178	0,842

Nilai rerata pada baris sama yang diikuti dengan superscrip sama, tidak berbeda nyata, sedangkan dengan superscrip berbeda, berbeda nyata ($P < 0,05$).

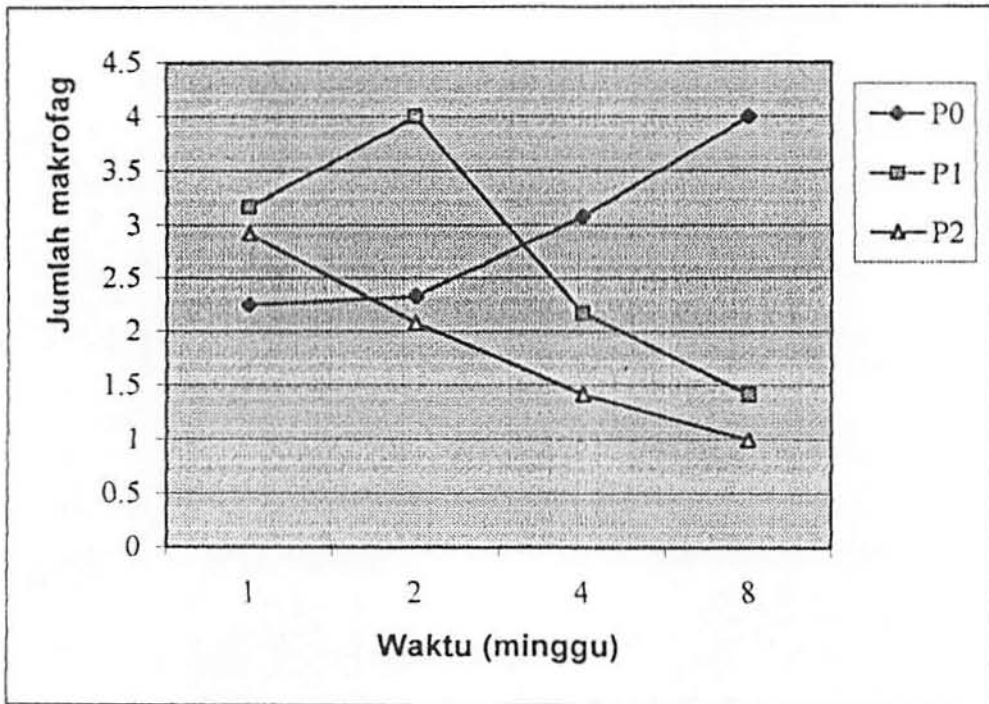
Tabel 4.6. Rerata jumlah makrofag mukosa lambung mencit yang diberi paparan benzopirin selama 1, 2, 4, dan 8 minggu

	Waktu paparan (minggu)			
	1	2	4	8
Rerata jumlah makrofag	2,778 ^a	2,805 ^a	2,222 ^a	2,138 ^b
Simpangan baku	0,755	0,966	0,870	1,448

Nilai rerata pada baris sama yang diikuti dengan superscrip sama, tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), sedangkan yang diikuti superscrip berbeda, berbeda nyata ($P < 0,05$).

Tabel 4.7 Rerata jumlah makrofag mukosa lambung mencit dengan kombinasi dosis dan waktu paparan benzopirin

Kombinasi dosis dan Waktu paparan	Rerata jumlah makrofag	Simpangan baku
A1B1	2,250	0,250
A1B2	3,166	1,010
A1B3	2,916	0,721
A2B1	2,335	0,521
A2B2	4,000	0,250
A2B3	2,083	0,381
A3B1	3,083	0,520
A3B2	2,166	0,803
A3B3	1,416	0,144
A4B1	4,000	0,500
A4B2	1,416	0,381
A4B3	1,000	0,250
Total	2,427	0,966



Gambar 4.2. Grafik rerata jumlah makrofag mukosa lambung mencit setelah pemaparan benzopirin

Dosis P0 = kontrol, P1 = 10 mg/kg, P2 = 20 mg/kg.

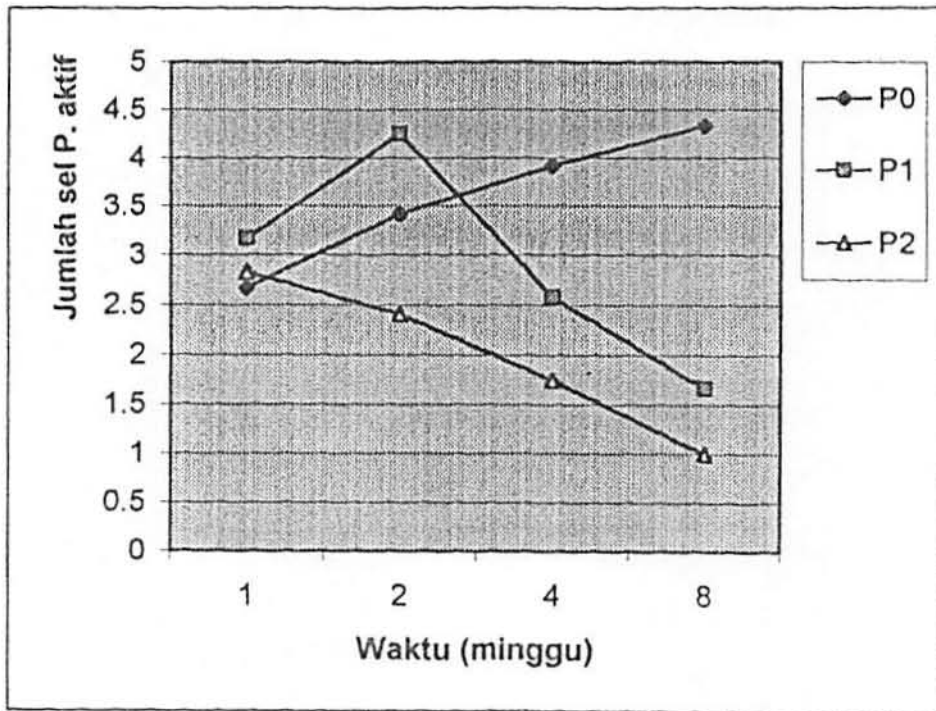
Waktu paparan : 1 minggu ;2 minggu;4 minggu; Dan 8 minggu

Dari tabel 4.5, tersebut di atas, terlihat bahwa rerata jumlah makrofag pada paparan benzopirin dengan dosis yang berbeda, rerata jumlah makrofag tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dengan perlakuan 10 mg/kg BB, $P > 0,05$. Sedangkan antara kontrol dan perlakuan 10 mg/kg BB dengan 20 mg/kgBB, tampak adanya perbedaan signifikans, $P < 0,05$. Dari tabel 4.6 untuk perlakuan dengan waktu paparan yang berbeda, waktu paparan 1, 2 dan 4 minggu tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata, $P > 0,05$.

Sedangkan waktu paparan 1,2,4 minggu dengan 8 minggu tampak adanya perbedaan yang signifikan $P < 0,05$. Dari tabel 4.7. serta gambar 4.2, terlihat bahwa rerata jumlah makrofag pada mukosa lambung mencit untuk kelompok kontrol menunjukkan adanya peningkatan jumlah, tetapi apabila dilihat dari pertumbuhan usia dari 2 bulan (pada paparan 1 minggu) sampai dengan usia 4 bulan (pada paparan 8 minggu) peningkatan tersebut tampak kurang signifikan. Untuk rerata jumlah makrofag pada kelompok perlakuan I (10 mg/kg BB), tampak bahwa jumlah makrofag mengalami peningkatan pada paparan 1 dan 2 minggu jika dibandingkan dengan kontrolnya, sedangkan untuk waktu paparan 4 dan 8 minggu jumlah makrofag mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan I. Sedangkan pada dosis dan waktu paparan yang tinggi (20 mg/kg BB) selama 4 dan 8 minggu, benzopirin dapat menekan jumlah makrofag yang terbaca secara bermakna. Selanjutnya untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna, dari perlakuan dosis, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang diberikan, dilakukan analisis varians dua arah yang dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil Anava dua arah dapat dilihat pada tabel 4.8.

Tabel 4.8. Rangkuman analisis varians dua arah terhadap rerata jumlah makrofag mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin

Sumber variasi	DF	SS	MS	F	P
Dosis	2	6,698	3,349	11,834	0,000
Waktu	3	2,840	0,947	3,346	0,000
Interaksi	6	22,358	3,726	13,168	0,000
Dalam	24	6,792	0,283		
Total	35	38,688	1,105		



Gambar 4.3. Grafik rerata jumlah sel plasma aktif mukosa lambung mencit setelah paparan benzopirin dengan dosis P0 = kontrol, P1 = 10 mg/kg, P2 = 20 mg/kg. Waktu paparan : 1 minggu ; 2 minggu ; 4 minggu ; dan 8 minggu

Dari tabel 4.9 tersebut di atas terlihat bahwa rerata jumlah sel plasma aktif pada paparan benzopirin dengan dosis dan waktu paparan yang berbeda, serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan menunjukkan rerata jumlah sel plasma aktif yang berbeda secara nyata, $P < 0,05$ antara kelompok kontrol, perlakuan 10 mg/kg BB dan 20 mg/kgBB. Dari gambar 4.3 tersebut di atas, terlihat bahwa rerata jumlah sel plasma aktif pada mukosa lambung mencit untuk kelompok kontrol menunjukkan adanya peningkatan jumlah. Untuk rerata jumlah sel plasma

aktif pada kelompok perlakuan I (10 mg/kg), tampak bahwa jumlah sel plasma aktif mengalami peningkatan pada paparan 1 dan 2 minggu jika dibandingkan dengan kontrolnya, sedangkan untuk waktu paparan 4 dan 8 minggu jumlah sel plasma aktif mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan pada dosis paparan yang tinggi (20 mg/kg BB) selama 2, 4 dan 8 minggu, benzopirin dapat menekan jumlah sel plasma aktif yang terbaca, jika dibanding dengan kelompok kontrol dan perlakuan 10 mg/kg berat badan. Selanjutnya dilakukan analisis varians dua arah yang dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil Anava dua arah dapat dilihat pada tabel 4.11.

Tabel 4.12. Rangkuman analisis varians dua arah terhadap rerata jumlah sel plasma aktif mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin

Sumber variasi	DF	SS	MS	F	P
Dosis	2	15,167	7,583	48,533	0,000
Waktu	3	4,847	1,616	10,341	0,000
Interaksi	6	16,111	2,685	17,185	0,000
Dalam	24	3,750	0,156		
Total	35	39,675	1,139		

Dari hasil analisis data yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa paparan benzopirin dengan dosis dan waktu paparan yang berbeda memberikan pengaruh terhadap penurunan jumlah sel plasma aktif, $P < 0,05$. Dengan demikian dapat diinformasikan bahwa semakin besar dosis dan semakin lama waktu paparan benzopirin yang diberikan, semakin menurun jumlah sel plasma aktif yang terbaca dan dihitung pada mukosa lambung mencit per lapang pandang.

4.2. Pembahasan

Dari hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa paparan benzopirin dengan dosis dan waktu paparan yang berbeda serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan dapat menyebabkan terjadinya penurunan rerata jumlah sel imunokompeten pada mukosa lambung mencit, utamanya penurunan limfosit, makrofag dan sel plasma aktif. Penurunan sistem ketahanan imunologik tersebut dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan progresivitas sel yang telah mengalami mutasi untuk segera menjadi sel kanker, karena keberadaan sel imunokompeten dapat berperan sebagai *immune surveillance*, yang mampu meronda dan memfagositosis sel yang mengalami mutasi karena pengaruh bahan karsinogenik. Penurunan respon imun yang terjadi pada mukosa lambung mencit, selain ditandai dengan penurunan jumlah sel imunokompeten, juga ditandai dengan adanya penurunan jumlah folikel-folikel limfoid pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrolnya. Hal ini dapat diketahui pada paparan 4 dan 8 minggu, terjadi penurunan ukuran ketebalan vili pada sebagian mukosa lambung yang diikuti dengan penurunan jumlah folikel limfoid pada mukosa lambung mencit, di samping itu juga terjadi lesi degeneratif dan perubahan ultra struktur pada mukosa lambung mencit. Namun pada beberapa bagian dari mukosa lambung mencit dari kelompok perlakuan, utamanya kelompok perlakuan 20 mg/kg berat badan, justru lebih banyak terjadi peningkatan ketebalan mukosa, hal ini dimungkinkan karena benzopirin yang bersifat karsinogenik mampu merangsang proliferasi dan hiperplasia sel epitel mukosa lambung mencit yang mengarah ke terjadinya kanker lambung.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Paparan benzopirin dengan dosis, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang berbeda berpengaruh terhadap penurunan jumlah limfosit pada mukosa lambung mencit.
2. Paparan benzopirin dengan dosis, waktu paparan serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang berbeda berpengaruh terhadap penurunan jumlah makrofag pada mukosa lambung mencit.
3. Paparan benzopirin dengan dosis dan waktu paparan yang berbeda, serta kombinasi antara dosis dan waktu paparan yang berbeda berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel plasma aktif mukosa lambung mencit.

5.2. Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan untuk dilakukan penyuluhan kepada masyarakat tentang pengaruh paparan benzopirin terhadap penurunan sistem ketahanan imunologik mukosa, utamanya yang dapat menyebabkan peningkatan progresivitas kanker lambung. Di samping itu dalam upaya mengungkap imunopatogenesis di mukosa lambung mencit akibat paparan benzopirin yang dapat menyebabkan terjadinya peningkatan kanker lambung, untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pemeriksaan variabel sistem ketahanan imunologik seluler, yang meliputi makrofag, CD4, CD8, sel NK serta sitokin dengan menggunakan metode pewarnaan imunohistokimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, 1994. **Cellular and Molecular Immunology**, 2 nd ed. Philadelphia: WB Saunders Co.
- Baratawidjaya KG, 1996. **Imunologi Dasar**. Edisi Ketiga. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Bellanti JA, Robbin JB, 1993. **Immunology**. Dalam **Imunologi III**. Terjemahan Samik Wahab A., Cetakan Pertama. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Cassarett & Doull's, 1986. **Toxicology The Basic Science of Poison**. Third edition. Mc. Millan Pub. Co. New York.
- Davila DR, 1996. Human T Cells Are Highly Sensitive To Suppression of Mitogenesis By Polycyclic Aromatic Hidrocarbons and This Effect is Differentially Reversed by Alpha-Naphthoflavone. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** Aug. 139 (2): 333-341.
- Goodman JW, 1994. The Immune Response. In **Basic & Clinical Immunology**, edited by Daniel P Stites, Abba I Terr, Tristram G. Parslow. 8th edition. A Lange Medical Book. 40-49.
- Hardin JA, 1992. Mechanism by Which Benzo(a)pyrene, and Environmental Carcinogen, Supressess B Cell Lymphopoiesis. **Toxicol Appl. Pharmacol.** 117 (2) : 155 - 164.
- Higgins JE, Klinbaum AP, Miller P, 1985. **Intoduction to Randomized Clinical Trials, The baslos of Randomized Clinical Trial With an Emphasis on Contraceptive Research**, Family health International Research Triangle Park, North Carolina.
- Husen SA, 1998. Pengaruh Penurunan sistem imun Seluler terhadap Peningkatan Progresivitas Kanker Payudara Pada Mencit (*Mus musculus L*) Akibat Induksi Benzopirena. **Lembaga Penelitian Universitas Airlangga**. Surabaya.

- Husen SA, 2000. Pengaruh Paparan Benzopirin Terhadap Penurunan Respons Imun Mukosa Lambung Mencit (*Mus musculus L*) Pendekatan Patobiologik. Tesis Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hengartner H, 1996. Decreased Tumor Surveillance in Perforin – Deficient Mice. *J. Exp. Med.* 184 (1): 1781-1790.
- Khatib J, 1998. Pengaruh Pemberian B Karoten Dan kombinasi Vitamin E – Vitamin C Terhadap Kanker Pada Mencit Galur Balb/C Yang Diinduksi Dengan Benzo(a)pirena . Tesis Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. Surabaya
- Marhendra APW, 1995. Profil Protein Serum, Struktur Bronkiolus dan komposisi Leukosit setelah Pemberian Benzo(a)pirin pada Tikus (*Rattus norvegicus, L*). Tesis Program Pasca Sarjana UGM. Yogyakarta.
- Pudjirahardjo WJ, Poernomo H, Machfoed MH, 1996. Metode Penelitian Dan Statistik Terapan . Penerbit Airlangga University Press. Surabaya.
- Putra ST, 1997. Konsep Patobiologi dan Imun Mukosal. Dalam *Imunologi Mukosal Kedokteran*. Editor oleh Pitono Soeparto, Suhartono Taat Putra, FM Judajana, Subianto Marto S. GRAMIK Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sarmanu, 1993. Statistik Parametrik : Uji t dan Uji Anova. Penataran Metodologi Penelitian, Statistik dan Komputer. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.
- Soeparto P, 1997. *Immunologi Intestinal*. Dalam *Imunologi Mukosal Kedokteran*. Editor oleh Pitono Soeparto, Suhartono T. Putra, FM Judajana, Subianto MS. GRAMIK Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya
- Strober W, James SP, 1994. The Mucosal Immune System. In *Basic & Clinical Immunology*, edited by Daniel P. Stites, Abba I Terr, Tristram G. Parslow. 8th edition. a Lange Medical Book. 541-551.
- Sudjana. 1989. *Metode Penelitian*. Edisi ke 5. Penerbit Tarsito. Bandung

Lampiran 1.

Hasil penghitungan jumlah limfosit pada mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin . P = 400x

Kelompok Perlakuan	Jumlah Limfosit				
	Lp ₁	Lp ₂	Lp ₃	Lp ₄	x
P0.1	5	7	7	4	5,75
	6	4	7	3	5,00
	4	3	6	5	4,50
P0.2	5	4	6	5	5,00
	5	6	5	4	5,00
	6	6	5	6	5,75
P0.3	5	6	6	5	5,50
	0	5	7	6	6,50
	6	5	8	5	6,00
P0.4	8	5	7	6	6,50
	7	6	8	7	7,00
	7	0	0	7	7,50
P1.1	5	6	5	6	5,50
	6	5	5	6	5,50
	7	5	5	6	5,75
P1.2	6	7	6	5	6,00
	6	0	5	5	6,00
	5	6	0	6	6,25
P1.3	5	4	4	3	4,00
	3	4	4	5	4,00
	4	6	3	4	4,25
P1.4	3	3	2	0	2,00
	3	5	2	0	2,50
	3	2	3	2	2,50
P2.1	6	5	5	6	5,50
	5	0	4	5	3,50
	4	0	6	6	4,00
P2.2	4	5	0	4	3,25
	4	5	4	3	4,00
	5	4	5	3	4,25
P2.3	4	3	4	3	3,50
	2	3	3	4	3,00
	3	2	0	2	1,75
P2.4	2	3	0	2	1,75
	3	2	2	0	1,75
	2	3	0	3	2,00

Lampiran 3.

Hasil penghitungan jumlah sel plasma aktif mukosa lambung mencit yang terpapar benzopirin . P = 400x

Kelompok Perlakuan	Jumlah Sel Plasma Aktif				\bar{x}
	Lp ₁	Lp ₂	Lp ₃	Lp ₄	
P0.1	3	4	3	2	3,00
	3	3	2	3	2,75
	4	3	0	2	2,25
P0.2	4	3	3	4	3,50
	3	4	3	2	3,00
	4	5	3	3	3,75
P0.3	3	6	3	4	4,00
	2	4	3	6	3,75
	4	3	3	6	4,00
P0.4	4	3	4	4	3,75
	4	5	4	5	4,50
	3	5	6	5	4,75
P1.1	4	3	0	4	2,75
	3	4	4	2	3,25
	3	3	4	4	3,50
P1.2	4	3	5	5	4,25
	3	5	3	6	4,25
	4	6	4	3	4,25
P1.3	5	3	0	2	2,50
	5	0	4	3	3,00
	3	2	0	4	2,25
P1.4	2	0	2	2	1,50
	0	3	2	2	1,25
	4	2	3	0	2,25
P2.1	3	4	2	3	3,00
	3	3	3	2	2,75
	5	4	0	2	2,75
P2.2	4	3	0	5	3,00
	0	4	3	0	1,75
	2	4	4	0	2,50
P2.3	3	0	2	2	1,75
	3	2	0	3	2,00
	3	3	0	0	1,50
P2.4	0	2	0	0	0,50
	2	0	4	0	1,50
	0	4	0	0	1,00

Lampiran 5.

Hasil Anava 2 arah makrofag yang dilanjutkan dengan uji LSD

*** ANALYSIS OF VARIANCE ***

by MAKROFAG
DOSIS
WAKTU

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	10.899	5	2.180	7.519	.000
DOSIS	7.503	2	3.752	12.940	.000
WAKTU	3.396	3	1.132	3.904	.021
2-Way Interactions	20.385	6	3.398	11.719	.000
DOSIS WAKTU	20.385	6	3.398	11.719	.000
Explained	31.285	11	2.844	9.809	.000
Residual	6.958	24	.290		
Total	38.243	35	1.093		

----- ONEWAY -----

Variable MAKROFAG
By Variable GROUP

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	GROUP	
1.0000	Grp12	
1.4167	Grp 8	
1.4167	Grp11	
2.0833	Grp10	*
2.1667	Grp 7	*
2.2500	Grp 1	*
2.3333	Grp 2	* * *
2.9167	Grp 9	* * *
3.0833	Grp 3	* * * * *
3.1667	Grp 5	* * * * * *
4.0000	Grp 4	* * * * * * * * *
4.0000	Grp 6	* * * * * * * * *

Lampiran 6.

Hasil Anava 2 arah sel plasma akrif yang dilanjutkan dengan uji LSD

*** ANALYSIS OF VARIANCE ***

P. AKTIF
by DOSIS
WAKTU

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	20.014	5	4.003	25.618	.000
DOSIS	15.167	2	7.583	48.533	.000
WAKTU	4.847	3	1.616	10.341	.000
2-Way Interactions	16.111	6	2.685	17.185	.000
DOSIS WAKTU	16.111	6	2.685	17.185	.000
Explained	36.125	11	3.284	21.018	.000
Residual	3.750	24	.156		
Total	39.875	35	1.139		

----- ONEWAY -----

Variable P. AKTIF
By Variable GROUP

Multiple Range Tests: LSD test with significance level .05

(*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	GROUP	
1.0000	Grp12	
1.6667	Grp 8	*
1.7500	Grp11	*
2.4167	Grp10	* * *
2.5833	Grp 7	* * *
2.6667	Grp 1	* * *
2.8333	Grp 9	* * *
3.1667	Grp 5	* * * *
3.4167	Grp 2	* * * * *
3.9167	Grp 3	* * * * * *
4.2500	Grp 6	* * * * * * *
4.3333	Grp 4	* * * * * * *

